

アイソトープ実験研究施設

教授：福田 国彦 放射線診断学
(兼任)
 教授：朝倉 正 がんの生化学
 講師：箕輪はるか 放射線化学・生物

教育・研究概要

I. プロテアソーム阻害剤耐性細胞における上皮間葉転換 (EMT) 誘発機構

新規化学療法剤であるプロテアソーム阻害剤 Epoxomicin (EXM) に対して耐性を獲得した子宮内膜がん細胞 Ishikawa (Ish/EXM) は、E-cadherin 発現消失を伴う EMT を誘発した。この E-cadherin 発現調節に転写抑制因子 ZEB1 および ZEB2 が関与していることを明らかにした。

最近、種々の遺伝子の発現調節・制御において microRNA (miR) の関与が報告されているので、miR 発現調節における E-cadherin の発現調節について検討した。

EMT に関与するとして、miR9, miR10a, miR10b, miR21, miR23a, miR23b, miR34a, miR141, miR150, miR192, miR200a, miR200b, miR200c, miR205, miR206, miR215, miR217, miR221, miR298, miR374b, miR382, miR429, miR508-3p, miR539 などが知られているので Ishikawa および Ish/EXM における発現を調べた。その結果、miR10a と miR10b は Ish/EXM において発現が亢進しており、逆に miR141, miR200a, miR200b, miR200c は Ish/EXM で発現が消失していた。ここで、miR141, miR200a, miR200b, miR200c は塩基配列の相同性が高く miR200 family と呼ばれ EMT 関与も報告されているので、miR200 family による転写抑制因子 ZEB1, ZEB2 の発現調節について調べた。

ここで、E-cadherin が発現し ZEB1, ZEB2 の発現が消失している Ishikawa は miR200 family が発現しており、逆に E-cadherin の発現が消失し ZEB1, ZEB2 が発現している Ish/EXM では miR200 family の発現は消失していた。また、siRNA により Ish/EXM の ZEB1 をノックダウンしても、消失している miR200 family の発現は回復せず、ZEB2 のノックダウンでは miR200 family の発現は一部回復したので、miR200 family は ZEB1 の上流に位置し、ZEB2 は相互にフィードバック調節していることも考えられた。そこで、miR200 fami-

ly の発現量を anti-miRNA および pre-miRNA を用いて調節した。miR200 の発現している Ishikawa の miR200 を anti-miR200 を導入してノックダウンすると、ZEB1 の発現と E-cadherin の消失が観察され、逆に miR200 の消失している Ish/EXM に pre-miR200 を導入して miR200 を発現させると、ZEB1 が消失し E-cadherin の発現が回復した。これらは遺伝子レベル・タンパク質レベルで同様の結果となり、miR200 family が ZEB1 の上流に位置することが明らかとなった。ZEB2 についても同様な結果が得られ相互に調節されていることが示唆された。

以上のことから、miR200 family が ZEB1, ZEB2 の発現を制御し、それに伴い E-cadherin の発現が調節されていた。つまり、感受性細胞では miR200 family が発現しているので ZEB1, ZEB2 共にその発現は抑制され、E-cadherin は発現している。しかし、耐性を獲得すると miR200 family の発現は消失し、ZEB1, ZEB2 共にその抑制が解除され発現が回復・亢進する結果、E-cadherin の発現を抑制し EMT を誘発することが示唆された。

II. 放射線耐性生物における耐性機構の解析

クマムシは 0.1mm 程度の大きさの微小動物であり、乾燥や電離放射線などの極限環境に耐性を持つことが知られている。8本の足を持ち、ゆっくりと歩く様子が熊を連想させることから日本語でクマムシ、英語では water bear という名前が付けられており、単独で緩歩動物門を成している。クマムシの電離放射線への耐性機構を明らかにするため、クマムシに 50~300Gy の X 線を照射し、DNA の損傷を comet assay により分析した。試料として西新橋校周辺の苔からオニクマムシ (*Milnesium Tardigradum*) を採取し、また東京都下水道局三河島水再生センターより活性汚泥の提供を受け、ゲスイクマムシ (*Isohypsibius myrops*) を採取した。comet assay は Comet Assay Kit ES II (Trevigen) を使い、Comet Assay Tank CSL-COM20 (Cleaver) にて電気泳動後 SYBR Gold で染色した。染色した細胞を自動細胞イメージアナライザ ArrayScan XTI (Thermo Fisher Scientific) で観察した。その結果、ゲスイクマムシ (*Isohypsibius myrops*) では comet 像が観察出来なかったが、オニクマムシ (*Milnesium Tardigradum*) で comet 像が観察された。

Ⅲ. ラドンに関する研究

ラドンは、岩石・土壌中に含まれるウランの崩壊により生じる気体の放射性同位元素である。生体への影響が大きいアルファ線を放出するため、呼気により体内に取り込まれた場合、喫煙と共に肺がんの主要原因ともなる。ラドンは水に可溶性であり、地下の岩石から地下水・温泉に溶け込んで地表に湧出する。地下水・温泉水中のラドン濃度は、地下の地質構造や岩石中のウラン濃度を反映していると考えられる。我々は東京都環境局により名湧水として指定されている57箇所の湧水中のラドン濃度を測定した。その結果から、湧水のラドン濃度は、集水域の地形や地質学的特徴を反映していることがわかった。

Ⅳ. 放射性降下物の環境中における追跡および測定法の開発

2011年3月に起きた福島第一原子力発電所事故により環境中に放出された放射性物質の分布と挙動について調査を行った。福島県および関東地方から土壌や植物などの環境試料を採取し、放射性セシウム等、放射性物質の定量とイメージングプレートを用いた画像解析を行った。また事故による汚染水の海洋漏洩を受け、海水中の放射性ストロンチウムの安全かつ簡易・迅速な分析法を検討した。陽イオン交換樹脂(Dowex 50W-X8)を充填したカラムによりCa、Mg等と分離し、放射性ストロンチウムを炭酸塩沈殿として捕集し、新たに考案したプラスチックシンチレータボトルを用いて、LSC-LB7(Hitachi)にて測定した。化学分離操作の所要時間は、従来の方法では約2週間かかったが、この方法では約10時間(のべ2日)で可能となった。200mLの海水試料を分析した場合の検出下限値は約0.1Bq/Lとなった。この方法は、海水のスクリーニング調査に有効に利用できると考えられる。

「点検・評価」

1. 施設

アイソトープ実験研究施設は、本学における放射性同位元素(RI)を用いた基礎医学・生化学研究の実施と支援を行っている。また、RIを使用しない生化学実験・動物実験・遺伝子組換え実験等も積極的に受け入れている。2016年度は、11講座・研究室の35名、2カリキュラムの8名の合計43名(うち女性17名)が実験・研究を行った。昨年度に比べ、1講座・研究室の増加があったが利用者数は52名から43名へと減少した。RI受入件数は17件と若

干減少し、使用核種は ^{32}P 、 ^{51}Cr 、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{125}I などであり、使用量合計は805MBqであった。RIの利用者数はここ数年40~50名程度で推移しており、RI実験を行いやすい環境を整えるために、棚の設置・実験台の配置換えや、当施設所有のピペットマン・試薬等を共有して利用できるようにした。また、コールド実験も推進して共同研究施設として保有する設備・機器を広く利用してもらえるよう継続して努めている。

現在、施設内で使用できる密封されていない放射性同位元素として使用許可を受けている核種は ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{35}S 、 ^{45}Ca 、 ^{51}Cr 、 ^{54}Mn 、 ^{59}Fe 、 ^{60}Co 、 ^{75}Se 、 ^{85}Sr 、 ^{89}Sr 、 ^{90}Sr 、 ^{109}Cd 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{134}Cs 、 ^{137}Cs 、 ^{152}Eu である。

2. 研究

2015年4月より朝倉 正(准教授)が生化学講座より移動し、2016年1月より教授として当施設を主宰するようになった。前講座時代からの研究テーマである「薬剤耐性細胞のEMT誘発機構の解明」について継続して展開しており、EMT誘発に直接関わる転写抑制因子と、その因子の発現制御をしているmicroRNAを同定した。

2011年3月11日の東日本大震災による福島第一原子力発電所事故での汚染水の海洋漏洩を受け、海水中の放射性ストロンチウムの安全かつ簡易・迅速な分析法を確立し、海水のスクリーニング調査に利用できることを示した。

「ラドンに関する研究」では、ラドン濃度を地震予知に応用しようとする試みがあることから分かるように、地下構造は数々の要因により変化する。東京都環境局により名湧水57選として指定されている湧水中のラドン濃度を測定した結果から、東京の複雑な、特徴ある地形を反映した地質学的特徴が示された。

3. 教育

医学科2年生、3年生の教育に携わり、多くの講義・演習・研究室配属を分担している。特に、「研究室配属」では4名が6週間の実習を行った。また「分子から生命へ」では講義・演習・実習を担当しており、「血液・造血器系」、「代謝障害学」、「ヒトの時間生物学」の各講義を担当している。また、大学院共通カリキュラムにおいては、RI基礎技術の修得を目的とした5日間の実習を行い、2名が受講した。

一方、教職員が施設を有効に利用できるよう、放射線障害防止法に基づく教育訓練を年6回実施し67名が受講した。施設管理部署の一次立入者を対

象とした教育訓練を年度初めに2回実施し8名が受講した。

社会貢献活動の一環として、一般向けの放射線教育を行っている。NPO法人放射線教育フォーラムとの共催で、第1回勉強会を6月12日に、第2回勉強会を2017年3月4日に、公開パネル討論会「今やる、放射線教育Ⅳ」を11月13日にいずれも南講堂で開催した。他にも放射線教育に関する国際シンポジウム開催、各地で開かれている市民レベルでの講演会に講師を派遣している。また、「放射性降下物の環境中における挙動」については、一般市民の関心が依然として高く、関連研究会での発表のみならず、一般向けの講演会・測定会等も継続して行っている。

放射線ばかりでなく、実験廃棄物や医療廃棄物の問題に関しても積極的に取り組んでおり、有害・医療廃棄物研究会では理事として、研究講演会を7月26日と2017年2月16日に南講堂で開催し、環境省と東京都環境局からの講師による特別講演も実施した。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Yokoyama T, Misawa K, Okano O, Minowa H, Fukuoaka T. Photostimulated luminescence applicable to pre-screening of potassium-rich phases in chondritic breccias. J Radioanal Nucl Chem 2016; 310(1): 81-9.

III. 学会発表

- 1) 堀内公子, 箕輪はるか, 吉澤幸夫, 朝倉 正. (ポスター) 湧水中ラドン濃度からみた東京都の地形の特徴. 第133回成医会総会. 東京, 10月.

GMP 対応細胞・ベクター産生施設

教授：本間 定 腫瘍免疫学
講師：大前トモ子 細胞培養施設管理・運営

教育・研究概要

I. 悪性膠芽腫（グリオブラストーマ：GBM）に対する樹状細胞ワクチン療法継続のための法的手続きの遂行

本施設を利用してGBMに対する樹状細胞ワクチン療法のための融合細胞ワクチンを作製することを目的として、新たに制定された再生医療等安全性確保法を遵守して業務を行う法的手続きを行った。その結果、第3種認定再生医療等委員会による承認が得られるまでの期間、GBMに対する樹状細胞療法は休止となった。本学の第3種認定再生医療等委員会の本治療に対する審査は7月4日に行われ、修正をもって承認となった。8月19日、厚労省地方厚生局長あてに審査結果を提出、9月2日に受理された。その後、法的手続きのために中断していた本臨床試験のための樹状細胞ワクチンの作製が再開された。

「点検・評価」

本年度以降は本邦における細胞治療、再生医療は新たに制定された再生医療等安全性確保法による規制下に施行されることとなった。そのために、現在進行中の細胞療法は本年度中の法的手続きの完遂が必要となり、これまで施行してきた細胞産生業務が本年度は大きく制約を受けることとなった。慈恵医大附属病院で10年以上にわたり施行されているGBMに対する樹状細胞療法は治療継続中の患者、新患者も少なくなく、早急な制度上の承認を要した。新法下では本施設のように病院内に設置されていない細胞培養施設はPMDAによる「許可」を得て初めて細胞治療、再生医療のための承認施設となりうる。このために、7月17日、本施設はPMDAからの係官による査察を受け、数項目の改善点の指摘を受けた。この指摘に従い、施設内ではすべてのクリーンベンチが安全キャビネットへ変更され、産生された細胞の解析や初代培養のため使用する大学1号館10階、12階の施設の一部も細胞治療のための施設として登録することなどを行い、10月9日、関東信越厚生局より本施設は新法下の細胞培養施設としての承認を得た。また、細胞治療施行のために先に学内に設置された第3種再生医療等委員会によ